

# **Methoden und Ergebnisse der Gentechnologie**

## **Bericht über die erste Arbeitsphase der synthetischen Biologie**

Anfang der siebziger Jahre haben molekularbiologische Forscher die Möglichkeit entdeckt, das Erbgut der Lebewesen durch die wechselseitige Transplantation von Genen gezielt zu verändern. Damit wurde ein neuer Wissenschaftszweig geboren, die *Gentechnologie*. Diese Entwicklung ergab sich – im nachhinein fast zwangsläufig – aus dem in zwanzig Jahren molekularbiologischer Forschung angesammelten und zu einem ganzen System zusammengewachsenen Wissen. Es bedurfte dazu aber tatsächlich doch des genialen Blicks einiger weniger Wissenschaftler für die in langsamer Ansammlung entstandenen kombinatorisch-synthetischen Möglichkeiten.

Bis 1974 war die Molekularbiologie – wie andere Zweige der Biologie auch – eine Disziplin, die das beschrieb und analysierte, was sie in der Natur vorfand, – einschließlich naturgegebener „Antworten“ auf experimentell gesetzte Bedingungen. Ganz anders nun die Entwicklung zu der neuen Fähigkeit, planvoll und nach eigenen Vorstellungen vorzugehen, um Erb-moleküle verschiedener Herkunft frei zu kombinieren. Entsprechend diesem Vorgehen führten zielgerichtete Gentransplantationen dazu, daß beispielsweise das Hormon Insulin jetzt nicht mehr nur von den Inselzellen in der Bauchspeicheldrüse des menschlichen Körpers, sondern auch von einem gentechnologisch veränderten Bakterium gebildet wird. Die Bakterien synthetisieren das ihnen fremde und für sie nutzlose Insulin-Protein als Genprodukt des bei ihnen eingeführten und fest verankerten Gens für das Insulin des

Menschen. Nach mehrfach verbesserter, kunstvoller Gen-Eingliederung produzieren diese Bakterien sogar mehr von dem fremden Protein als von jedem eigenen.

In Anlehnung an die Entstehung und Entwicklung der synthetisch-organischen Chemie in der Mitte des vorigen Jahrhunderts wird die Gentechnologie zuweilen auch als „synthetische Biologie“ bezeichnet. Im Laufe des 19. Jahrhunderts haben die Chemiker auf der Grundlage der Synthese von Substanzen, die sie in der Natur vorfanden und zunächst imitierten, dann auch den Schritt zur Entwicklung völlig frei erdachter chemischer Verbindungen gewagt, vom Aspirin bis hin zum Nylonfaden. Wenn auch die Gentechnologie heute in diesem Vergleich noch in der ersten Phase steht, so erwarten doch viele hier eine ähnliche Entwicklung für die Zukunft. Aber schon jetzt kann die Gentechnologie viele mit der Methode der Gentransplantation erreichte Erfolge vorweisen, von denen manche bereits zur unmittelbaren Anwendung geführt haben. In der Arzneimittelherstellung wie beim Insulin, in vielen weiteren Gebieten der Medizin einschließlich der Diagnostik, in der Landwirtschaft und auch für den Umweltschutz. Der weitaus größte Teil der Ergebnisse der Gentechnologie gehört jedoch der Grundlagenforschung an und hat innerhalb weniger Jahre auf mehreren Gebieten zu einem Erkenntnissschub geführt und damit ein wichtiges Potential für spätere Anwendungen geschaffen.

Die Möglichkeiten der Gentechnologie erweisen sich damit von beiderlei Ergebnissen her als eine zukunftsweisende,

fruchtbare Entwicklung. Die Erfahrungen bisher zeigen außerdem, daß entgegen manchen Befürchtungen unmittelbare Gefahren für den Menschen aus der Gentechnologie offenbar nicht erwachsen. Dennoch werden von den Forschern bei jeder Gen-Neukombination Sicherheitsvorkehrungen gegen – wenn auch nur hypothetische – experimentelle Risiken getroffen. Mit der schnellen weiteren Entwicklung des technisch Möglichen müssen sie neben Überlegungen zur Sicherheit sich auch der Frage stellen, ob das (demnächst) Machbare ethisch und moralisch verantwortet werden kann.

## **Die Technik der Genverpflanzung**

### *1. Schneideenzyme sind die molekularen Scheren der Gentechnologen*

Eine lange und langsame Entwicklung, die schließlich doch zum zündenden Funken für die Gentechnologie wurde, begann mit der in den frühen Jahren gemachten Entdeckung eines biologischen Schutzsystems der Bakterien gegen das Eindringen fremder, aus Desoxyribonukleinsäure (DNS bzw. englisch DNA) bestehender Erbmoleküle. Als Ursache für die Zerstörung der eindringenden DNA konnte später die Bildung von Enzymen in den Bakterien nachgewiesen werden, welche die Fremd-DNA an jeweils ganz bestimmten Stellen zerschneiden. Dabei entstehen Bruchstücke verschiedener Länge, die jedoch oft noch ein Gen oder mehrere intakt enthalten. (Anschließend werden dann die Stücke mit anderen Enzymen von den Enden her ganz abgebaut).

Inzwischen wurden rund einhundert verschiedene Schneideenzyme aus den unterschiedlichsten Mikroorganismen präpariert. Sie alle zerschneiden die Erbmoleküle an den für sie jeweils typischen Stellen

(Erkennungs-Sequenzen). Diese große Palette von Schneideenzymen, genannt Restriktionsendonukleasen, erlaubt es heute, die einzelnen Gene immer exakter und ohne den Ballast unerwünschter Nachbargene aus den Chromosomen einer Zelle herauszuschneiden.

### *2. Plasmide transportieren Gene in die Zellen hinein*

Schleust man beliebige Fremdgene einzeln in Bakterien ein, dann werden diese Nukleinsäurestücke von den DNA-Enden her meist sehr schnell vernichtet. Man kann aber beobachten, daß diese Gene von den Zellen sehr viel leichter angenommen werden, wenn sie nicht allein in die Zelle gelangen, sondern im – möglichst ringförmigen – Verbund mit einem DNA-Molekül, das aus den Bakterien selbst stammt und das in den Bakterien fähig ist zur autonomen Vermehrung (Replikation). Sehr erfolgreiche Begleitmoleküle sind daher Minichromosomen, die in manchen Bakterienzellen vorkommen und aus diesen leicht isoliert werden können. Sie werden als Plasmide bezeichnet. Besonders gut funktioniert der Gentransfer mit den Plasmiden aus dem Darmbakterium *Escherichia coli*. Die ringförmigen kleinen Erbmoleküle werden mit einer Restriktionsendonuklease aufgeschnitten, es wird ein isoliertes Fremdgen in passender Form hinzugefügt und dann die Enden beider Segmente mit Hilfe des Enzyms DNA-Ligase untereinander verbunden. Von diesem Enzym werden alle exakt aufeinander passenden Nukleinsäure-Enden fest miteinander verbunden, unabhängig von der Gestalt ihrer Enden im einzelnen. Das mit dem Fremdgen verkoppelte Plasmid wird anschließend in eine (plasmidfreie) Wirtszelle eingeschleust. In den Bakterienzellen vermehren sich dann die Plasmide mitsamt ihrem Fremdgen im Zy-

toplasma. So kann man mühelos Gene des Menschen oder der Maus in Bakterienzellen, aber auch umgekehrt Bakterien-Gene in Mäuse- oder Hefezellen übertragen und dort vermehren. Je nach Plasmidtyp entstehen bis zu einigen hundert Plasmidkopien pro Zelle, die bei der Zellteilung an die Tochterzellen unverändert weitergegeben, d.h. vererbt werden. Der gesamte Ablauf wird auch als das Klonieren eines Gens bezeichnet.

### **Technische Schwierigkeiten und Grenzen der Gentechnologie**

Während es heute schon zur Routine der Gentechnologie gehört, fast jedes gewünschte Gen isolieren und in eine andere Zelle verpflanzen zu können, bereitet die anschließende Aktivierung dieses Gens zur Arbeitsfähigkeit in fremder Umgebung zuweilen noch erhebliche Schwierigkeiten. Diese beruhen zum einen auf dem sehr verschiedenen Aufbau der Gene von höheren und niederen Organismen. Zudem sind die Regulationssignale, also die „Schalter“ zum An- und Abdrehen der Gene, bei den einzelnen Organismen unterschiedlich aufgebaut. Eine Bakterienzelle kann aus beiden Gründen mit dem Gen für das Hormon Insulin zunächst gar nichts anfangen.

Anstelle der in den tierischen oder pflanzlichen Zellen oft vorkommenden, „gestückelt“ aufgebauten Gene sind für die Expression in den Bakterien Netto-Informationspakete erforderlich. Diese werden heute meist so gewonnen, daß aus höheren Zellen zunächst die entlang den Genen gebildeten, schließlich aber verkürzten Boten-Nukleinsäuren direkt oder auf einem Umweg isoliert werden; sie entsprechen der Netto-Information der Gene. Von diesen RNA-Molekülen werden dann im Reagenzglas mit Hilfe von Enzymen DNA-Kopien hergestellt und diese

als die gewünschten, bakteriengerechten Gene verwendet.

Das Problem der unterschiedlichen Regulationssignale kann nur dadurch überwunden werden, daß eine bakterieneigene Signalkette anstelle des mitgebrachten Bereichs funktionsgerecht vor das Fremdgen gesetzt wird. Das verlangt eine diffizile DNA-Kombinationstechnik, die mit nukleotidgenauem Ergebnis arbeiten muß. Bevorzugt wird der Einbau solcher Systeme, bei denen sich die Gen-Expression von außen mit einfachen Mitteln steuern läßt.

Das Verfahren ist am besten erprobt für die Bakterienzellen. Weil der Bakterienzelle auf diese Weise im Schlepptau des eigenen Signals das Vorliegen eines eigenen Gens vorgetäuscht wird, kann das Fremdgen gezielt aktiviert werden. Mit diesem Trick konnten bereits eine ganze Reihe medizinisch wichtiger Makromoleküle des Menschen in Bakterienzellen synthetisiert werden. Die Täuschung der Zelle durch das Verkoppeln eines Fremdgens mit zelleigenen Regulationssignalen hat sich in einigen Fällen auch für die Aktivierung von Fremdgenen in Säugerzellen bewährt. Hier wird das Fremdgen bevorzugt an ein von außen, beispielsweise durch Schwermetallionen wie Zink, leicht regulierbares Signal angehängt. Durch die Zugabe von Metallionen kann dann das gewünschte Gen in den Zellen aktiviert werden. Mit dieser Methode war es vor drei Jahren einer Gruppe Wissenschaftler in Seattle gelungen, das Gen für ein fremdes Wachstumshormon in Mäuseembryonen einzubringen und zu aktivieren. Durch die zusätzliche Synthese von Wachstumshormonen während der Embryonalentwicklung wuchsen die Mäuse zur Übergröße heran. Es war dies die erste erfolgreiche Genmanipulation an einem Säugetier, zugleich der erste gezielte Eingriff in die Keimbahn eines Säugers.

Ein Problem bei der Synthese von Proteinen höherer (eukaryoter) Zellen in *Escherichia coli* kann durch das Fehlen einer zusätzlichen Modifikation der Proteine mit Kohlenhydrat-Seitengruppen (in allen Bakterien) entstehen. Eine Reihe von eukaryoten Proteinen – besonders die Proteine an den Zelloberflächen – sind mit solchen Seitengruppen ausgestattet, die dann oft die Funktion der Proteine mitbedingen. In diesen Fällen kann in Bakterien kein normal gebildetes und voll wirksames Protein entstehen, und hier muß deshalb die gentechnische Produktion in eukaryote Zellen verlagert werden oder zumindest in Hefezellen, in denen ein vereinfachtes System der Kohlenhydrat-Seitengruppenbildung besteht.

Während die in Bakterienzellen eingeschleusten Fremdgene im allgemeinen mit Plasmiden verkoppelt im Zellplasma verweilen, werden die in Zellen von Säugetieren oder Pflanzen übertragenen Gene oft mitsamt Transportvehikel in die Chromosomen eingebaut. Dieser Einbau läßt sich jedoch nicht vorherbestimmen und an eine ausgewählte Stelle auf einem Chromosom dirigieren. Damit ist die Gefahr gegeben, daß der Einbau des Fremdgens inmitten eines anderen wichtigen Gens erfolgt und dieses in zwei Teile spaltet. Dadurch wird die Funktionsfähigkeit des chromosomalen Gens notwendigerweise sein.

### **Erste Erfolge der Gentechnologie**

Die neue Möglichkeit, Gene zu isolieren, in beliebige Zellen einzuschleusen und sie dort auf ein Steuersignal hin in das gewünschte Genprodukt übersetzt zu bekommen, erschließt weitreichende Möglichkeiten. Als wichtigste Anwendungs- und Entwicklungsgebiete für die Gentechnologie lassen sich – neben der eigentlich

dominierenden Bedeutung für die Grundlagenforschung – heute vor allem fünf Felder aufzählen:

- Die Synthese seltener, komplizierter und therapeutisch wichtiger Proteine, besonders von Hormonen, von Enzymen und von Komponenten des Blutserums, aber auch von einer großen Zahl weiterer Enzyme für eine Verwendung in der medizinischen Diagnostik oder schließlich für den Einsatz bei Synthesereaktionen in der Industrie.

- Die Herstellung neuer und verbesserter Impfstoffe.

- Die Analyse von genetischen Veränderungen und Abweichungen beim Menschen, einschließlich der pränatalen Diagnose von Erbkrankheiten; dazu u. a. die Vaterschaftsbestimmung.

- Die gezielte Verbesserung von Nutztieren und Kulturpflanzen, als eine Ergänzung zu den herkömmlichen Züchtungsmethoden.

- Die Therapie von Erbkrankheiten.

Viele Krankheiten wie der (juvenile) Diabetes mellitus, also die Zuckerkrankheit, die verschiedenen Bluterkrankheiten (Hämophilie A, B, C) oder der (hypophysäre) Zwergwuchs beruhen auf den ererbten Unfähigkeit einzelner Menschen, alle für ein gesundes Gedeihen notwendigen Proteine bilden zu können. Diesen Patienten kann geholfen werden, wenn ihrem Körper das eine fehlende Protein zugeführt wird. Sie können dann – wie uns die Diabetiker oder die Bluter beweisen – ein nahezu normales Leben führen, während sie ohne eine solche Therapie einen frühen Tod erleiden müßten oder lebenslang benachteiligt blieben.

Bisher wurden die für derartige Therapien notwendigen Substanzen aus menschlichen Organen oder ersatzweise auch aus tierischen Körpern gewonnen: Das blutzuckersenkende Hormon Insulin aus der Bauchspeicheldrüse von Schweinen, Rin-

dern oder anderen Tieren, der Blutgerinnungsfaktor für die Bluter aus Blutkonserven und das Wachstumshormon aus der Hirnanhangdrüse Verstorbener. Diese Substanzen waren wie die tierischen Insuline entweder nicht identisch mit der menschlichen Substanz, oder aber sie sind im menschlichen Organismus nur in sehr geringen Mengen vorhanden und deshalb außerordentlich teuer rein darzustellen.

Nur in Glücksfällen – so bei den Sexualhormonen – handelt es sich bei wichtigen Erbdefekten um chemisch gesehen einfache Stoffe, die durch chemische Synthese rentabel dargestellt werden können. Bei hochkomplizierten Protein-Molekülen wie den Blutgerinnungsfaktoren aber ist das ausgeschlossen. Für diese im Körper nur in winzigen Mengen vorhandenen, komplizierten Biomoleküle bietet die Gentechnologie die einzigartige Chance, ihre Synthese von Mikroorganismen oder von tierischen Zellen im Labor naturgetreu nachvollziehen zu lassen. Es ist dabei sogar so, daß die komplizierten Proteinmoleküle gentechnisch das einfachere Ziel darstellen, weil sie als primäre Genprodukte unmittelbar unter der Kontrolle der Gene gebildet werden. Die Synthese der chemisch gesehen einfacheren Moleküle, wie z.B. der Sexualhormone (chemisch: Steroide), auf diesem Wege wäre dagegen wie für alle sekundären Genprodukte sehr viel aufwendiger. Damit ergänzen sich im Rahmen der Pharmazie die chemische und die gentechnische Methode für die Herstellung kleiner und großer Moleküle. Das erste gentechnologisch gewonnene Produkt war 1977 das Hormon Somatostatin. Nur wenig später folgten das Insulin, das Wachstumshormon und ein erstes Interferon: eine antivirale Komponente des Immunsystems. Das Humaninsulin ist das erste auf gentechnologischem Wege gewonnene menschliche Protein, das vom Bundesgesundheitsamt zur Behandlung

des Diabetes freigegeben wurde (Herbst 1982).

Inzwischen befindet sich eine ganze Reihe weiterer interessanter Produkte im Stadium der vorklinischen oder klinischen Prüfung. Viele Forschungslabors, Pharmafirmen und reine Gentechnologiefirmen arbeiten derzeit an der gentechnischen Produktion jeweils „ihrer“ Substanz. In der klinischen Prüfung hat sich das Wachstumshormon inzwischen als ein erfolgreiches Therapeutikum gegen den (hypophysären) Zwergwuchs erwiesen. Die Zulassung dieser Substanz als das zweite gentechnologisch hergestellte Therapeutikum ist im September 1985 in England und in den USA bereits erfolgt.

Im Fall des Insulins stand mit dem aus Pankreas gewonnenen Schweineinsulin ein Therapeutikum zur Verfügung, das die meisten Diabetiker komplikationslos vertrugen. Das biosynthetische Humaninsulin bietet zwar eine noch bessere Verträglichkeit, vor allem aber sichert es den steigenden Bedarf ab, der in einen Engpaß zu geraten droht, wenn – anders als jetzt – auch die Diabetiker der Dritten Welt ausreichend behandelt werden sollen. Ganz anders ist die Situation beim Wachstumshormon. Weil das Hormonprotein aus tierischen Quellen beim Menschen unwirksam ist, mußte diese Substanz aus dem Gehirn Verstorbener gewonnen werden. Da es nicht einfach ist, die Zustimmung der Angehörigen zu der Organentnahme zu erhalten, ist schon das Ausgangsmaterial knapp. Hinzu kommt, daß das Hormon in der Hirnanhangdrüse nur in sehr geringen Mengen vorkommt. So stand bisher gerade nur soviel Hormon zur Verfügung, daß einige wenige Fälle von extremem Minderwuchs therapiert werden konnten. Die Reinheit der verwendeten Präparate ist zudem stark umstritten. Die gentechnologische Synthese von Wachstumshormon bedeutet daher erstmals die

sichere und ergiebige Quelle für eine Substanz, von der – wenn sie erst einmal in ausreichender Menge vorhanden ist – vielleicht auch gezeigt werden kann, daß sie zur Beschleunigung von Wundheilungen oder zur Behandlung der im Alter vor allem bei Frauen auftretenden Knochenbrüchigkeit (Osteoporose) therapeutisch genutzt werden kann.

Große Hoffnungen richten sich auf die gentechnologische Synthese der sogenannten Interferone. Es sind dies Steuermoleküle des Immunsystems, die an der Körper-Abwehr vieler Virusinfektionen und vielleicht auch gegen manche Krebszellen beteiligt sind. Nach der Reindarstellung der vorher nur in winzigen Mengen und in unsauberen Präparaten erhältlichen Interferone stehen diese für klinische Studien (einschließlich solcher mit Mischpräparaten) zur Verfügung, die zeigen müssen, wie die antivirale und die krebshemmende Wirkung der Interferone auch therapeutisch genutzt werden können. Neben den Genen für verschiedene Interferone sind inzwischen auch Gene für weitere Steuer- und Wirkkomponenten des Immunsystems kloniert worden. Dazu gehören die sogenannten Interleukine, das Cytokinin und der Tumornekrosefaktor, die alle indirekt oder direkt an der immunologischen Abwehr von Krebszellen beteiligt zu sein scheinen.

Neben Produkten für die klinisch-therapeutische Anwendung sind Proteine interessant, die als diagnostische Hilfsmittel (z. B. für Enzym-Tests) oder auch als Zusätze für die Lebensmittelindustrie (Kollagenasen, Proteasen u. ä.) gentechnologisch gewonnen werden könnten. Als ein weiteres Beispiel für eine eher ausgefallene Anwendung seien zwei Proteine genannt: Thaumatin und Monellin, die eine außerordentlich hohe Süßkraft haben und eine fast kalorien- (und auch karies-)freie Alternative zum Zucker darstellen könnten.

Das gesamte Gebiet der Biologie wird sicher noch viele andere Beispiele bieten, wo ein interessantes Phänomen auf die Wirkung eines einzigen Proteins zurückgeführt werden kann und sich damit, über die Isolierung des zugehörigen Gens, für eine gentechnologische Auswertung anbietet.

Während die bisher genannten Beispiele auf einer Synthese unveränderter Genprodukte beruhen, wird in neueren Entwicklungen auch die gezielte Abwandlung eines natürlichen Genproduktes durch willkürlich gesetzte DNA-Veränderungen (Mutationen) angestrebt. Ein Beispiel hierfür ist das Alpha-I-Antitrypsin, ein Protein des Blutplasmas. Es hält die Aktivität seines (wichtigsten) Gegenspielers, der Elastase, in Schach und sorgt damit dafür, daß das Bindegewebe der Lunge sich in einem ausgewogenen elastischen Zustand entwickelt und in diesem Zustand auch gehalten wird. Patienten mit einem Erbdefekt im Gen für das  $\alpha$ I-Antitrypsin leiden an fehlender Lungenelastizität und entwickeln ein Lungenemphysem. Da bekannt ist, welche ganz wenigen Aminosäuren im aktiven Zentrum des Moleküls für die Spezifität des Proteins verantwortlich sind, haben die Gentechnologen begonnen, die genetische Information an diesen Stellen zu ändern. Durch den Austausch der Aminosäure Methionin an einer kritischen Stelle gegen ein Valin erhielten sie ein Protein, das sehr viel weniger empfindlich gegen die oxidierende und damit inaktivierende Wirkung von Zigarettenrauch ist. Das Valin enthaltende Protein ist damit für eine Behandlung des Lungenemphysems starker Raucher (aber auch anderer Patienten) geeignet. Durch den Ersatz des gleichen Methionins gegen ein Arginin konnte man der gezielten Abwandlung des Proteins überraschend noch eine ganz andere Richtung geben. Das Arginin-Protein hat

nämlich seine Aktivität als Hemmstoff der Elastase eingebüßt und stattdessen die Fähigkeit gewonnen, das Thrombin zu hemmen, also ein an der Blutgerinnung und ggf. der Thrombusbildung beteiligtes Serumprotein. Das Arginin- $\alpha$ I-Antitrypsin kann therapeutisch zum Auflösen kleiner Blutgerinnsel, beispielsweise bei Patienten mit Herzinfarkt, eingesetzt werden. Man hofft durch weitere Austauschoperationen an den entscheidenden Aminosäuren eine ganze Reihe maßgeschneiderter Hemmstoffe für Enzyme entwickeln zu können. Es ist offensichtlich, daß dieses Vorgehen Modellcharakter für die gezielte Abwandlung vieler anderer gentechnologisch gewonnener Produkte hat.

### **Eine neue Generation von Impfstoffen**

Besondere Fortschritte erhofft man sich auch von gentechnologisch gewonnenen neuen Generationen von Impfstoffen. Man denkt dabei vor allem an die Entwicklung von Impfstoffen gegen solche Krankheitserreger wie die infektiöse Leberentzündung (Hepatitis B), die Schlafkrankheit, die Malaria oder auch die Maul- und Klauenkrankheit der Huftiere, gegen die es bisher noch gar keinen oder keinen befriedigenden Impfstoff gibt. Die Gene für viele der für den Impfschutz wesentlichen Oberflächenstrukturen der Viren oder Parasiten werden inzwischen kloniert. Fieberhaft wird beispielsweise an der gentechnologischen Produktion eines Impfstoffes gegen die Hepatitis-B-Infektion gearbeitet, an der weltweit Millionen Menschen erkranken. Da sich herausgestellt hat, daß Bakterien das Impfantigen, ein Virus-Oberflächenprotein, offenbar nicht in einer der natürlichen Konformation entsprechenden Form (mit Kohlenhydrat-Seitengruppen) synthetisieren können, wählt man inzwischen Hefezellen oder tierische Zellen, in der Hoffnung,

daß diese die Viruskomponente in funktionsfähiger Weise bilden. Da es Hinweise darauf gibt, daß eine chronische Hepatitis B-Infektion dem primären Leberkrebs den Weg bereiten kann, kommt der Immunisierung gegen dieses Virus weltweit eine vorrangige Bedeutung zu.

Ein zweiter interessanter Weg, mit Hilfe der Gentechnologie Impfstoffe herzustellen, besteht in der Konstruktion hybrider Viren. Diese sollen Gene für die Oberflächenstrukturen gleich mehrerer anderer Viren enthalten. Zum Trägersystem eines solchen Typs von Hybridviren ist das bekannte Kuh-Pockenvirus der Pockenimpfung ausersehen. Dieses ist so groß, daß seinem Erbgut problemlos auch gleich mehrere fremde Gene einverleibt werden können. Zwar besteht für das Kuh-Pockenvirus nach wie vor ein merkliches Impfrisiko. Gemessen an dem großen Nutzen, den eine Einmal-Impfung gegen vielleicht ein ganzes Dutzend gängiger Viren für Länder der Dritten Welt bedeuten würde, könnte dieses Impfprojekt jedoch eine große Zukunft haben. Zunächst wird allerdings die von der früheren Pockenimpfung her noch bestehende Immunität gegen dieses Virus seinen Einsatz auf die nachgeborenen Kinder beschränken.

### **Vorteile gentechnologischer Produkte**

Der große Vorsprung bakteriell hergestellter Makromoleküle besteht vor allem darin, daß das gewünschte Genprodukt absolut frei von anderen Bestandteilen höherer Zellen einschließlich ihrer Viren ist. Dies kann von entscheidender Bedeutung sein, wie die vielfachen Zwischenfälle mit einer Übertragung von Hepatitis B-Viren und neuerdings leider auch von dem Erreger der lebensbedrohenden Immunschwäche AIDS auf viele Bluter-Kranke beweisen, die in kurzen Intervallen mit Faktor VIII-Präparaten aus Blutkonser-

ven-Aufarbeitungen versorgt werden müssen. Eine solche Kontamination kann es bei gentechnologisch in Bakterien hergestellten Produkten nicht geben. Ebenso entfällt die Gefahr von Autoimmunreaktionen gegen verunreinigende Zellbestandteile. Auch Spuren unerwünschter Wachstumsfaktoren, von Hormonen oder von Proteinen aus Krebszellen, schließlich auch von DNA- oder RNA-Bruchstücken einschließlich solcher von krebserzeugenden Genen (z. B. aus Tumoviren), die in Präparaten aus menschlichen Organen enthalten sein könnten, kommen bei einer bakteriellen Herstellung nicht vor.

Ein großer Vorteil besteht für die spätere Reinigung zuallererst darin, daß es möglich ist, die Konzentration in aktivem Produkt auf 5–20% der Bakterienproteine zu steigern, gegenüber oft nur 1:100 000 bis 1:1 000 000 bei den eukaryoten Zellen. Aber natürlich sind auch die aus Bakterien gewonnenen Säugerproteine chemisch nicht hundertprozentig rein. Eine Kontamination mit für den Menschen toxischen Bestandteilen aus Bakterienzellen, vor allem Zellwandbausteinen, kann nach den bisherigen Erfahrungen soweit behoben werden, daß eine Gefahr für den Menschen nicht besteht. Diese Reinigungsschritte bereiten dennoch allerhand Kopferbrechen, weil sie im Vergleich zur Herstellung des Ausgangsprodukts aufwendig sind und den gesamten Prozeß merklich verteuern, so daß auch jede weitere primäre Ausbeutesteigerung über die genannten Werte hinaus noch immer von erheblicher Bedeutung ist. Die bakterielle Gentechnologie kann dennoch im Herstellungsverfahren als vergleichsweise einfach charakterisiert werden, auch wenn die Entwicklungskosten bisher noch sehr hoch und die Kapital-Kosten der Anlage bei der Ersteinrichtung erheblich sind. Hier läßt sich allerdings erwarten, daß einmal installierte Bakterien-Fermenter und auch die

Trennungs- und teilweise die Produkt-Reinigungsanlagen sich für mehrere unterschiedliche Proteine nutzen lassen.

### **Gen-Analyse und vorgeburtliche Diagnose von Erbkrankheiten**

Die Restriktions-Endonukleasen der Gentechnologen können nicht nur dazu verwendet werden, um einzelne Gene aus den Chromosomen herauszutrennen, sondern auch, um Veränderungen (Mutationen) im Erbmolekül festzustellen. Liegt die eine Erbkrankheit bedingende Veränderung in der Bausteinreihenfolge der DNA gerade im Erkennungsbereich eines der vielen Schneideenzyme, dann kann dieses Enzym dort nicht mehr wirken und die DNA bleibt hier ungeschnitten (oder umgekehrt). Damit ändert sich das „Schnittmuster“ der DNA. Eine solche Analyse kann daher dazu benutzt werden, um direkter als mit allen früheren Methoden Erbanomalien festzustellen.

Genanalysen erfassen unabänderliche (aber zum Teil kompensierbare) Erb-Eigenschaften eines Menschen und können ihm besondere Gefährdung durch die Umwelt einschließlich der an seinem Arbeitsplatz aufzeigen. Sie werden auch der genetischen Beratung eine neue, verlässliche Grundlage geben. In der vorgeburtlichen (pränatalen) Diagnose von Erbkrankheiten wurden bisher vor allem Chromosomenanalysen und biochemische Analysen von Genprodukten, meist Enzymen, durchgeführt. Die DNA-Schnittmusteranalyse erlaubt es aber, nun die Gene selbst zu untersuchen, im Vergleich zu Schnittmusteranalysen bei den Eltern. Weil die Erbinformation in allen Zellen des kindlichen Organismus gleich ist, können für die Schnittmusteranalyse beliebige Zellen verwendet werden, einschließlich der in der achten bis 10. Woche besonders leicht zugänglichen Zellen einer



sogenannten Chorionzotte. Damit entfallen die Gefahren, die mit der Gewinnung von Fruchtwasserproben oder gar Blutproben aus dem embryonalen Kreislauf verbunden ist. Zudem läßt sich so die pränatale Diagnose erheblich vorverlegen, was mit einer entsprechend früheren Entscheidung über eine Schwangerschaftsunterbrechung eine erhebliche psychische Erleichterung für die Frau bedeuten dürfte.

An die Stelle der Schnittmuster-Analyse wird in zunehmendem Maße die noch schnellere und empfindlichere Hybridisierungs-Analyse der DNA treten. Hierbei wird die DNA mit einem Paar radioaktiv markierter synthetischer DNA-Proben darauf abgetastet, ob die normale oder die defekte Form eines Gens vorliegt oder im heterozygoten Falle beide gleichzeitig. Diese Methode ist z. B. eingeführt für die Untersuchung der Sichelzellenanämie bei afrikanischen und bei amerikanischen Negern, die zu einem Defekt in der Hämoglobinsbildung führt. Obwohl es sich bei dieser Erbkrankheit um ein Beispiel der kleinstmöglichen Veränderung an der DNA handelt, nämlich um einen einzigen Nukleotidaustausch unter drei Mrd. Basenpaaren im Genom des Menschen, so gelingt doch die molekulargenetische Analyse bei nur geringer Vorarbeit mit sehr kleinen Materialproben und in kurzer Zeit. Voraussetzung ist allerdings ein sehr genaues Grundlagenwissen um die Art des vorliegenden Defekts, das in diesem Maß bislang nur in sehr wenigen Fällen vorhanden ist; ihre Zahl allerdings nimmt schnell zu. Die DNA-Schnittmusteranalyse erlaubt dagegen die pränatale Diagnose sogar von solchen Erbkrankheiten, bei denen wie im Fall der cystischen Fibrose, der Aran-Duchenne-Muskelschwäche oder der Chorea Huntington (einer schweren neurologischen Störung) bislang weder das Gen noch das Genpro-

dukt bekannt ist (und deshalb auch die biochemische Methode der pränatalen Diagnostik nicht angewendet werden kann). Die vergleichende DNA-Schnittmusteranalyse stützt sich hier auf Veränderungen in einem mit dem eigentlichen Gen eng verkoppelten Nachbarbereich.

### **Gentechnologie bei Nutztieren und Kulturpflanzen**

Züchterischen Einfluß auf die Lebewesen dieser Erde nimmt der Mensch schon seit rund 10000 Jahren. Die geduldige Auswahl der dicksten Grassamen, der süßesten Früchte und der Schafe mit der besten Wolle für die Fortpflanzung ist schrittweise abgelöst worden von gezielten Kreuzungsprogrammen, wie sie bei den heutigen Zuchtfirmen üblich sind. Die kernlose Apfelsine, die Jostabeere als ein Hybrid aus Johannis- und Stachelbeere, der mit dem Wolf kaum mehr ähnliche gelockte Pudel und die 15000 Liter-Hochleistungs-Milchkuh sind eindrucksvolle Beispiele für auf diesem Wege erreichte Ergebnisse. So erfolgreich dieser Prozeß auch gewesen ist, eine Schranke hat er bisher noch immer (mit nur geringfügigen Überschreitungen) an der Grenze der Arten gefunden. Erst die Gentechnologie bietet die Chance, auch diese Barriere zu überwinden.

Bisher haben die Züchter von Nutztieren und Kulturpflanzen nach ihrer Methode der größer werdenden Nachfrage immer noch gut Stand halten können, die Gentechnologen sind jedoch der Ansicht, mit ihren Verfahren die bisher erfolgreichen Methoden noch ergänzen und damit zu einer Verbesserung der Welternährungslage beitragen zu können. Sie hoffen, mit ihren Systemen die Entwicklung z. B. von virusresistenten Nutztieren oder von salz- oder trockenheitsresistenten Pflanzen vorantreiben zu können.

Daß manchmal schon mit geringem genetischen Aufwand massive Änderungen erreicht werden können, zeigt das spektakuläre Beispiel der Riesenmaus. Diese wird mehr als doppelt so schwer wie ihre normalen Artgenossen, weil man ihr im Zustand der befruchteten Eizelle ein Gen für das Wachstumshormon der Ratte ins Erbgut eingepflanzt hatte.

### **Pläne für eine somatische Gentherapie am Menschen**

Seit den ersten Anfängen der Gentechnologie ist die Möglichkeit diskutiert worden, mit dieser Methode auch Eingriffe in das Erbgut des Menschen vorzunehmen mit dem Ziel, Erbkrankheiten zu heilen. Dies könnte auf zweierlei Arten geschehen: Zum einen könnte das defekte Gen entfernt und dann durch ein gesundes Gen ersetzt werden. Dieser Weg erscheint jedoch als unnötig schwierig, so daß sich alle Bemühungen auf den zweiten Weg konzentrieren, nämlich ohne Rücksicht auf die beiden vorhandenen erbkranken Gene ein drittes gesundes Gen zusätzlich in das Erbgut einzuschleusen. Ein solches überzähliges Gen soll dann den bestehenden (doppelten) Gendefekt kompensieren.

Die gezielte Transplantation von Genen an einen ganz bestimmten Ort im Chromosom einer Zelle, und das zugleich in vielen Zellen des Körpers, ist bisher undurchführbar. Oft würde es aber genügen, lediglich einige Körperzellen mit einem gesunden überzähligen Gen an beliebiger Position im Chromosom auszustatten (und zu prüfen, daß dabei nicht ein anderes Gen zerstört oder andere Schäden gesetzt wurden) in der Hoffnung, daß die von diesen Zellen gebildete, bisher fehlende Substanz über die Blut- und Lympfbahn an den Ort ihrer Wirkung transportiert werden kann. Bei dieser sogenannten somatischen (die Körperzellen betreffenden) Gentherapie wäre also jeweils nur ei-

ne kleine Zellgruppe des Patienten genetisch verändert. Die Gene der Keimbahn blieben dagegen unangetastet.

So könnten beispielsweise bei einem Erbdefekt in der Bildung gesunder roter Blutkörperchen (Thalassämien) die Blutbildungsstammzellen aus dem Knochenmark eines Patienten gewonnen und mit einem gesunden Zusatz-Gen versehen werden. Eine zweifelsfrei intakte Zelle mit leistungsfähig eingebautem Gen könnte ausgewählt und weitervermehrt werden, um dann wieder in das Knochenmark des Patienten rücktransplantiert zu werden.

Aus ethischer Sicht lassen sich gegen dieses Vorgehen prinzipiell keine Bedenken vorbringen. Der Vergleich mit der weithin akzeptierten Organtransplantation z. B. einer Niere zeigt, daß ähnliches in der Medizin schon jetzt praktiziert wird. Demgegenüber wird ein gentechnologischer Eingriff in der beschriebenen Form ein eindeutig geringeres Ausmaß an „Körperverfremdung“ für den Patienten haben. Jede Anwendung der somatischen Gentherapie setzt allerdings voraus und ist auch nur dann ethisch vertretbar, wenn in vielen und von heute aus betrachtet sicherlich noch langjährigen Vorversuchen am Tier die Technik soweit entwickelt worden ist, daß im Einzelfall der Nutzen gegen die Risiken klar abgegrenzt werden kann. So muß z. B. sicher ausgeschlossen werden können, daß die behandelten und reimplantierten Zellen später zu Krebszellen entarten. Dann wird der Gentherapie wie überall in der Medizin der alte ärztliche Grundsatz des „nil nocere (nicht schaden)“ die maßgebliche Orientierungshilfe für jedwedes ärztliche Handeln sein.

### **Gentherapie an den Keimbahnzellen**

Wie die genmanipulierten Riesenmäuse beweisen, ist es prinzipiell möglich, genetische Veränderungen bei Säugern zu einem

frühen Zeitpunkt der Embryonalentwicklung in einer Weise vorzunehmen, daß die neuen Gene in die Keimbahnzellen gelangen und damit auch an die Nachkommen weitervererbt werden. Diese Versuche zeigen allerdings auch, daß bei vielen in gleicher Weise manipulierten Geschwistermäusen die Genverpflanzung mißlungen ist oder sogar Schäden zur Folge hat. Auch hier läßt sich bisher nicht der *Einbau des neuen Gens in das Chromosom* garantieren, noch gar das Einschleusen an einen bestimmten Ort im Chromosom (wo das neue Gen auch aktiviert werden kann). Der Einbau des Gens in das Erbgut der Zelle erfolgt vielmehr zufallsmäßig und kann sich inmitten eines bestehenden wichtigen Gens vollziehen, das damit in zwei Hälften zerrissen wird. Zudem kann das Ersatz- oder Zuatzgen eine Aktivität entwickeln, die sich nicht harmonisch in das körperliche Gleichgewicht einfügt. So waren die ersten genmanipulierten weiblichen Riesenmäuse durchweg unfruchtbar, und erst bei der Verpflanzung eines Gens für ein anderes Hormon, welches die Bildungsrate des – körpereigenen – Wach-

stumshormons stimuliert, entstanden neue große Mäuse, bei denen sowohl die männlichen als auch die weiblichen Tiere fruchtbar waren und ihren Riesenwuchs stabil weitervererben konnten.

Die nach einer solchen Genverpflanzung auftretenden Probleme des teilweisen Mißlingens sind für die Tier- und Pflanzenzüchtung von geringer Bedeutung, weil sie durch eine entsprechende Auswahl unter den Nachkommen nicht anders als bei der Selektion im traditionellen Züchtungsverfahren auch überwunden werden können. Während also in der Nutztierzucht der erwünschte stabile Eigenschaftserwerb bei auch nur einem einzigen Tier unter hundert Versuchen einen großen Erfolg darstellen würde, käme schon ein einziger Fehlschlag unter hundert oder mehr solcher ‚Therapien‘ beim Menschen einer Katastrophe gleich. Aus ethischen Gründen sind sich alle beteiligten Forscher darüber einig, daß gentechnische Eingriffe in die Keimbahnzellen des Menschen um der unabsehbaren Folgen willen nicht vorgenommen werden dürfen.